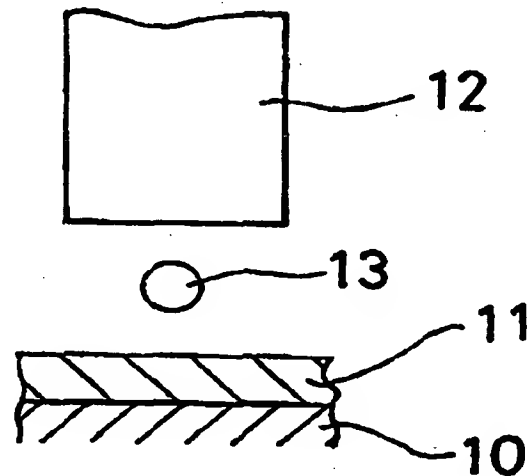




(51) 国際特許分類6 <b>G01N 1/00, C12Q 1/68, G01N 33/48,          C12M 1/00, B01J 19/00</b>	<b>A1</b>	(11) 国際公開番号 <b>WO98/58240</b>  (43) 国際公開日 1998年12月23日(23.12.98)
(21) 国際出願番号 PCT/JP98/02389  (22) 国際出願日 1998年5月29日(29.05.98)  (30) 優先権データ 特願平9/177857      1997年6月19日(19.06.97)      JP  (71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) トヨタ自動車株式会社 (TOYOTA JIDOSHA KABUSHIKI KAISHA)[JP/JP] 〒471-8571 愛知県豊田市トヨタ町1番地 Aichi, (JP) (72) 発明者 ; および (75) 発明者 / 出願人 (米国についてのみ) 佐藤至弘(SATO, Yoshihiro)[JP/JP] 〒471-8571 愛知県豊田市トヨタ町1番地 トヨタ自動車株式会社内 Aichi, (JP) (74) 代理人 弁理士 平木祐輔, 外(HIRAKI, Yusuke et al.) 〒105-0001 東京都港区虎ノ門1丁目17番1号 虎ノ門5森ビル3階 Tokyo, (JP)		(81) 指定国      DE, JP, US.  添付公開書類 国際調査報告書
(54)Title: <b>METHOD OF RETAINING FINE LIQUID DROPLET, REACTION GENERATING METHOD AND REACTION VESSEL</b>  (54)発明の名称    微小液滴の保持方法、反応方法及び反応容器  (57) Abstract A method of retaining a very small quantity of a solution that is discharged by an ink jetting method for generating a chemical reaction stably for a long period of time without causing the solution to be evaporated; wherein a layer (11) of a liquid, such as an oil which is difficult to mix with a very small quantity of a solution (fine liquid droplets) to be retained is formed on a substrate (10), and a fine liquid droplet (13) is retained in the liquid layer (11) and in contact with the surface of the substrate (10). When the fine liquid droplet (13) is water, the liquid layer (11) covering the substrate surface can be an oil.		



Best Available Copy

(57)要約

化学反応などのためにインクジェット法によって吐出された極微量の溶液を蒸発させることなく長時間安定に保持する。

基板10上に、保持したい極微量の溶液(微小液滴)と混合しにくいオイルなどの液体層11を形成し、その液体層11中で微小液滴13を基板10の表面に接触させて保持する。微小液滴13が水性のとき、基板表面に被覆される液体層11は油性とすることができ。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

AL	アルバニア	FI	フィンランド	LK	スリ・ランカ	SI	スロヴェニア
AM	アルメニア	FR	フランス	LR	リベリア	SK	スロヴァキア
AT	オーストリア	GA	ガボン	LS	レソト	SL	シエラ・レオネ
AU	オーストラリア	GB	英国	LT	リトアニア	SN	セネガル
AZ	アゼルバイジャン	GD	グレナダ	LU	ルクセンブルグ	SZ	スワジランド
BA	ボスニア・ヘルツェゴビナ	GE	グルジア	LV	ラトヴィア	TD	チャード
BB	バルバドス	GH	ガーナ	MC	モナコ	TG	トーゴ
BE	ベルギー	GM	ガンビア	MD	モルドヴァ	TJ	タジキスタン
BF	ブルキナ・ファソ	GN	ギニア	MG	マダガスカル	TM	トルクメニスタン
BG	ブルガリア	GW	ギニア・ビサウ	MK	マケドニア旧ユーゴスラヴィア	TR	トルコ
BJ	ベナン	GR	ギリシャ		共和国	TT	トリニダード・トバゴ
BR	ブラジル	HR	クロアチア	ML	マリ	UA	ウクライナ
BY	ベラルーシ	HU	ハンガリー	MN	モンゴル	UG	ウガンダ
CA	カナダ	ID	インドネシア	MR	モーリタニア	US	米国
CF	中央アフリカ	IE	アイルランド	MW	マラウイ	UZ	ウズベキスタン
CG	コンゴ	IL	イスラエル	MX	メキシコ	VN	ヴェトナム
CH	スイス	IN	インド	NE	ニジェール	YU	ユーゴスラヴィア
CI	コートジボワール	IS	アイスランド	NL	オランダ	ZW	ジンバブエ
CM	カメルーン	IT	イタリア	NO	ノルウェー		
CN	中国	JP	日本	NZ	ニュージーランド		
CU	キューバ	KE	ケニア	PL	ポーランド		
CV	キープロス	KC	キルギスタン	PT	ポルトガル		
CZ	チェコ	KP	北朝鮮	RO	ルーマニア		
DE	ドイツ	KR	韓国	RU	ロシア		
DK	デンマーク	KZ	カザフスタン	SD	スーダン		
EE	エストニア	LC	セントルシア	SE	スウェーデン		
ES	スペイン	LI	リヒテンシュタイン	SG	シンガポール		

## 明細書

## 微小液滴の保持方法、反応方法及び反応容器

## 技術分野

本発明は、化学反応などに用いられる極微量の溶液をガラスプレート表面などに安定に保持する方法、微量の試薬を用いてPCR反応等の反応を行う方法及びそれに用いるに適した反応容器に関する。

## 背景技術

近年、バイオテクノロジーの分野では、PCR (polymerase chain reaction) やEIA (enzyme immunoassay) などの反応が利用されている。これらの反応においては、コスト削減などの観点から、反応液量の微量化が重要である。紙にインクを付着させて文字や画像を可視化するインクジェットの技術は、もともとは印刷のために開発されたものではあるが、極微量の液体を正確かつ高速に分注可能であり、反応液量の微量化のための技術として応用が図られてきた。

特許第4, 877, 745号明細書及びBioTechniques 15, 324(1993)にはインクジェット技術の分注器としての利用法が記載され、米国特許第5, 449, 754号明細書及び米国特許第5, 474, 796号明細書にはインクジェット技術の有機化学合成への応用が記載され、特開平4-262256号公報、特開平4-289457号公報及びAnalytical Chemistry 67, 3051にはインクジェット技術の免疫学的反応への応用が記載されている。例えば、特開平4-262256号公報には、必要な試薬をインクジェットによってフィルム上に印刷しておき、使用時に50 $\mu$ L (マイクロリットル) 程度のサンプル溶液を加え、試薬を溶出させて反応を行い、洗浄、発色を経て検出する方法が記載されている。

このように、化学反応における反応溶液の分注器としてインクジェットを利用することが考えられているが、臨床検査などで多数の反応を並列的に行う場合、試薬コスト低減のため個々の液量はできるだけ少ない方が望ましく、例えば100nL (ナノリットル) 以下とするのが望ましい。しかし、これまでインクジェットを利用して100nL以下、例えば10nL~1pL (ピコリットル) 程度の極微量の液中で臨床検査の反応、例えばPCRや免疫学的反応を行った例は報告されていない。前記した特開平4-262256号

## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl<sup>°</sup> G01N1/00, C12Q1/68, G01N33/48, C12M1/00, B01J19/00

## B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl<sup>°</sup> G01N1/00, C12Q1/68, G01N33/48, C12M1/00, B01J19/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報 1940-1996年  
 日本国公開実用新案公報 1971-1998年  
 日本国登録実用新案公報 1994-1998年  
 日本国実用新案登録公報 1996-1998年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	J P, 4-208836, A (オリンパス光学工業株式会社) 30. 7月. 1992 (30. 07. 92) 全文, 第1-9図	13 14-15
Y	J P, 6-3231, A (凸版印刷株式会社) 11. 1月. 1994 (11. 01. 94) 段落番号 [0012], [0015], [0019]	13
Y	段落番号 [0002], [0004]	14
Y	J P, 9-105708, A (株式会社京都第一化学) 22. 4月. 1997 (22. 04. 97) 段落番号 [0014] - [0025]	13

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの  
 「E」 先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの  
 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)  
 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献  
 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの  
 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの  
 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの  
 「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

07. 08. 98

国際調査報告の発送日

18.08.98

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)  
 郵便番号 100-8915  
 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

小山 茂 印

2 J

7519

電話番号 03-3581-1101 内線 3251

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	JP, 8-233710, A (株式会社日立製作所) 13. 9月. 1996 (13. 09. 96) 段落番号【0014】-【0026】及び第1-7図	1-15

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP98/02389

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl<sup>6</sup> G01N1/00, C12Q1/68, G01N33/48, C12M1/00, B01J19/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl<sup>6</sup> G01N1/00, C12Q1/68, G01N33/48, C12M1/00, B01J19/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho 1940-1996 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-1998  
 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-1998 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-1998

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP, 4-208836, A (Olympus Optical Co., Ltd.), July 30, 1992 (30. 07. 92), Full text ; Figs. 1 to 9	13 14-15
Y	JP, 6-3231, A (Toppan Printing Co., Ltd.), January 11, 1994 (11. 01. 94), Par. Nos. [0012], [0015], [0019]	13
Y	Par. Nos. [0002], [0004]	14
Y	JP, 9-105708, A (Kyoto Daiichi Kagaku Co., Ltd.), April 22, 1997 (22. 04. 97), Par. Nos. [0014] to [0025]	13
A	JP, 8-233710, A (Hitachi, Ltd.), September 13, 1996 (13. 09. 96), Par. Nos. [0014] to [0026] ; Figs. 1 to 7	1-15

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

- \* Special categories of cited documents:  
 \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance  
 \*E\* earlier document but published on or after the international filing date  
 \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)  
 \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means  
 \*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- \*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention  
 \*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone  
 \*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art  
 \*&\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
 August 7, 1998 (07. 08. 98)

Date of mailing of the international search report  
 August 18, 1998 (18. 08. 98)

Name and mailing address of the ISA/  
 Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**